**Key words**: Three-stranded structure, Energetics analysis, Stability, Molecular building, Energy optimization

---

* This project was supported by the Great Project of the Chinese Academy of Sciences.

① Institute of Chemistry, Academia Sinica.

② Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica.

③ The Computing Center of Yunnan Province.

# 体外 λ-DNA 形成新结构的证据*

# Evidence of λ-DNA Forming New Structure in Vitro

**关键词**：λ-DNA，熔解温度，DNase Ⅰ酶解

**Key words**: λ-DNA, Melting temperature, DNase Ⅰ enzymolysis

1990 年白春礼等人首次用扫描隧道显微镜（STM）直接观察到 λ-DNA／HindⅢ经热变性后在体外形成一种三链辫状结构。这一结果不同于目前提出的三螺旋模型，即第 3 条链缠绕于双链 DNA 的大沟之中。据文献报道，用同型嘌呤和同型嘧啶或以单链 DNA 和双链 DNA 反应所得到的三链物比双链 DNA 有较低的熔解温度（Tm），在解旋过程中 280 nm 光吸收值明显提高，对 DNase Ⅰ酶解有抗性等特征。

**材料和方法** 我们采用四重蒸馏水作为溶剂，按白春礼等（1990）的方法在体外观察 λ-DNA 新结构的生成。λ-DNA Hind Ⅲ为华美生物工程公司生产。最大吸收为 257.8 nm，260／235，260／280 的 OD 比值分别为 1.89 和 1.85，蛋白质含量小于 1%。将上述 DNA（0.5 μg／μl）在沸水中加热 15 min 后，迅速地插人冰水中。测定前用四重蒸馏水（pH5）稀释，最终浓度为 20 μg／ml，置于密封比色杯内在 Hitachi U-3200 紫外分光光度计测定。所示温度指样品池内经校正后的温度值。

**结果和分析** 经上述制备的样品具有如下特征：

1. 如图所示，温度吸收曲线呈现两个明显的解旋过程，分别为 $Tm_1 = 39.5 \pm 0.5$℃（A 组分）和 $Tm_2 = 73.5 \pm 0.5$℃（B 组分）；而样品经稀释（20 μg／ml）后按白春礼等（1990）方法同样处理后没有明显观察到上述现象。

B 组分的形成以 pH5.0 为最佳，pH7.0 时没有观察到；在同样条件下，未经热变性处理的样品在 pH7.0、6.0、5.0 和 4.0 没有观察到上述现象，Tm 值（43±0.5℃）无明显变化。在加热的过程中还观察到随温度升高，260／280 的 0.D 比值下降。相应于 B 组分的 $\triangle A_{280} / \triangle A_{260}$ 的比值显著大于双链 DNA。

（下转第 31 页）

---

* 中国科学院“八五”重大科研项目内容。

本文 1993 年 3 月 14 日收到。

experiment results reported.

This studies will benefit the further investigation in biological function of multiple hydrogen bond interactions from the theoretical point of view.

**Key words**: Triplet, Hydrogen bond pairs interaction, Hoogsteen base pairs, Interaction energy between base pairs

(上接第 25 页)

2. 用牛脾 DNase Ⅰ处理变性后的样品，经 Sephadex G−200 分离后，温度吸收曲线仅一个跃迁，Tm 为 73.5 ±0.5℃，凝胶电泳图谱经溴乙锭显色后在紫外光下观察到一个荧光带，片段大小相当于 4000—9000 bp 与双链 DNA 相比（相同磷含量），紫外吸收值降低，EB−DNA 荧光量子产率下降。

上述结果表明，热变性制备的天然单链 λ−DNA 在无 $Mg^{++}$存在下，pH5.0 的蒸馏水的反应系统中形成一种新的有序结构，它具有较高的 Tm 值，在解旋过程中 280 nm 光吸收值明显增加，对 DNase Ⅰ具有抗性，这些都与对照的双链 DNA 明显不同，与三螺旋产物特征也有较大的差别。这种新的有序结构具有较高的热稳定性，我们推测，有可能相应在 STM 中所观察到的三链辫状结构。

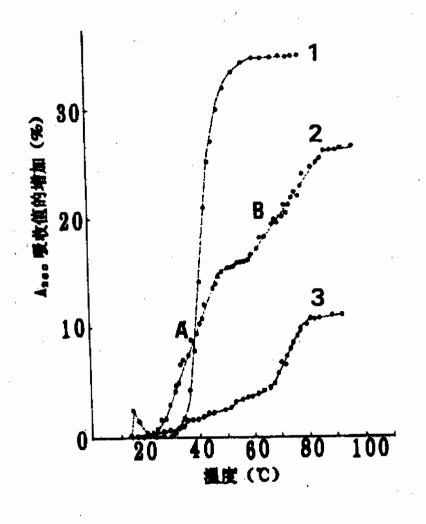



图 1　λ−DNA 的熔解温度曲线

Fig. 1　λ−DNA melting temperature curve

1: λDNA Hind Ⅲ

2: 变性 λDNA Hind Ⅲ

3: 经牛脾DNase Ⅰ处理的变性λ−DNA Hind Ⅲ

曹恩华[①]　白春礼[②]　何裕建[①]　方　晔[②]　张平城[②]

Cao Enhua[①]　Bai Chunli[②]　He Yujian[①]　Fang Ye[②]　Zhang Pingcheng[②]

(① 中国科学院生物物理研究所　北京　100101)

(① *Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing*　100101)

(② 中国科学院化学研究所　北京　100080)

(② *Institute of Chemistry, Academia Sinica, Beijing*　100080)